



⑩ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ Übersetzung der
europäischen Patentschrift
⑬ EP 0 576 439 B 1
⑭ DE 692 29 110 T 2

⑮ Int. Cl.⁶:
C 12 N 15/13

C 12 P 21/08
C 12 N 5/20
C 12 N 15/06
C 07 K 14/00
C 07 K 2/00
C 12 N 5/10
G 01 N 33/577
G 01 N 33/669
A 61 K 39/40

⑯ Deutsches Aktenzeichen: 692 29 110.5
⑯ PCT-Aktenzeichen: PCT/EP92/00380
⑯ Europäisches Aktenzeichen: 92 904 901.3
⑯ PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 92/16624
⑯ PCT-Anmeldetag: 22. 2. 92
⑯ Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: 1. 10. 92
⑯ Erstveröffentlichung durch das EPA: 5. 1. 94
⑯ Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: 6. 5. 99
⑯ Veröffentlichungstag im Patentblatt: 25. 11. 99

DE 692 29 110 T 2

⑩ Unionspriorität:
9105292 13. 03. 91 GB
⑬ Patentinhaber:
Common Services Agency, Edinburgh, GB
⑭ Vertreter:
Diehl, Glaeser, Hiltl & Partner, 80333 München
⑯ Benannte Vertragstaaten:
AT, CH, DE, DK, ES, FR, GB, IT, LI, NL, SE

⑫ Erfinder:
GRAM, Hermann, D-7858 Weil-Haltingen, DE; DI
PADOVA, Franco, CH-4127 Birsfelden, CH;
BARCLAY, George Robin, Dalkeith Midlothian EH22
3EL, GB; POXTON, Ian, Raymond, Darkeith
Midlothian EH22 3LU, GB

⑯ MONOKLONARER ANTIKÖRPER GEGEN LPS-KERN

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

DE 692 29 110 T 2

21.06.99

92904901.3-2105

Patentansprüche

1. Monoklonaler Antikörper, der ein Epitop in der Kernregion des LPS-Moleküls erkennt und der eine Kreuzschutzwirkung gegen Endotoxämie, die durch mindestens zwei unterschiedliche gram-negative Bakterienstämme mit unterschiedlichen Kernstrukturen hervorgerufen wird, entfaltet, wobei der monoklonale Antikörper eine konstante Region humanen Ursprungs, eine variable Gerüstregion humanen oder nicht-humanen Ursprungs und eine hypervariable Region nicht-humanen Ursprungs umfaßt.

2. Monoklonaler Antikörper nach Anspruch 1, der ein Epitop erkennt, das vollständig in der Rc-Kernstruktur von *E. coli* vorhanden ist, das auch im vollständigen Kern vorhanden ist.

3. Monoklonaler Antikörper nach Anspruch 1 oder 2, wobei die hypervariable Region murinen Ursprungs ist.

4. Monoklonaler Antikörper nach einem der vorstehenden Ansprüche, der vom IgG-Isotyp ist.

5. Hybridom-Zelllinie, die einen monoklonalen Antikörper nach einem der vorstehenden Ansprüche erzeugt.

6. LPS-bindendes Molekül, das mindestens eine Antigenbindungsstelle umfaßt, die mindestens eine Domäne umfaßt, die in Folge die hypervariablen Regionen hCDR1, hCDR2 und hCDR3 umfaßt;

wobei hCDR1 die Aminosäuresequenz Asp Tyr Tyr Met Thr aufweist;

wobei hCDR2 die Aminosäuresequenz Leu Ile Arg Asn W Arg Asn Gly Asp Thr Ala Glu Tyr Ser Ala Ser Val X aufweist;

wobei W Lys oder Tyr bedeutet und X Lys oder Arg bedeutet;

wobei hCDR3 die Aminosäuresequenz Gln Gly Arg Gly Tyr Thr Leu Asp Tyr aufweist;

und direkte Äquivalente davon.

21.06.99
57

7. Antikörper mit einer einzigen Domäne gemäß Anspruch 6, umfassend in Folge die hypervariablen Regionen hCDR1, hCDR2 und hCDR3, die mit murinen oder humanen H-Ketten-Gerüstregionen unter Bildung einer isolierten variablen H-Kettendomäne assoziiert sind.

8. LPS-bindendes Molekül gemäß Anspruch 6, umfassend mindestens eine Antigenbindungsstelle, die folgendes umfaßt:

a) eine erste Domäne, die in Folge die hypervariablen Regionen hCDR1, hCDR2 und hCDR3 gemäß der Definition in Anspruch 6 umfaßt; und

b) eine zweite Domäne, die in Folge die hypervariablen Regionen lCDR1, lCDR2 und lCDR3 umfaßt;

wobei lCDR1 die Aminosäuresequenz Arg Ala Y Z Asn Ile Asn Ile Trp Leu Ser aufweist;

wobei Y Ser oder Arg bedeutet und Z Gln oder Leu bedeutet;

wobei lCDR2 die Aminosäuresequenz Lys Ala Ser Asn Leu His Thr aufweist;

wobei lCDR3 die Aminosäuresequenz Leu Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Arg Thr aufweist;

und direkte Äquivalente davon.

9. LPS-bindendes Molekül gemäß Anspruch 8 oder 9, bei dem die hypervariablen Regionen mit murinen oder humanen Gerüstregionen assoziiert sind.

10. LPS-bindendes Molekül gemäß Anspruch 8 oder 9, bei dem die erste und zweite Domäne Teil einer einzelnen gemeinsamen Peptidkette sind.

11. Einzelkettiger Antikörper gemäß Anspruch 10, bei dem es sich bei der ersten und zweiten Domäne um eine variable Ig-H-Kettendomäne bzw. um eine variable Ig-L-Kettendomäne handelt, die kovalent durch einen Peptidlinker, der aus 10 bis 30 Aminosäuren besteht, gebunden sind.

12. LPS-bindendes Molekül gemäß Anspruch 8 oder 9, bei dem die erste Domäne Teil einer H-Kette mindestens eines Fragments eines Ig-Moleküls ist und die zweite Kette Teil einer L-Kette mindestens eines Fragments eines Ig-Moleküls ist.

21.06.99
58

13. LPS-bindendes Molekül gemäß Anspruch 12, bei dem es sich um ein vollständiges Ig-Molekül handelt.
14. Ig-Molekül gemäß Anspruch 13, das vom IgG-Isotyp ist.
15. Ig-Molekül gemäß Anspruch 13 oder 14, bei dem es sich um ein murines Molekül handelt.
16. Ig-Molekül gemäß Anspruch 13 oder 14, bei dem die variablen Domänen murin und die konstanten Domänen human sind.
17. Ig-Molekül gemäß Anspruch 13 oder 14, bei dem die Gerüstregionen und die konstanten Regionen human sind.
18. Ig-Molekül gemäß Anspruch 15 oder 16, bei dem die variable H-Kettendomäne eine Aminosäuresequenz aufweist, die im wesentlichen identisch mit Seq. Id. No. 1 oder alternativ mit Seq. Id. No. 2 ist und die variable L-Kettendomäne eine Aminosäuresequenz aufweist, die im wesentlichen identisch mit der von Seq. Id. No. 3 oder alternativ mit Seq. Id. No. 4 ist.
19. Ig-Molekül gemäß Anspruch 18 unter Rückbeziehung auf Anspruch 16, bei dem die konstante H-Kettendomäne vom humanen Typ γ_1 und die konstante L-Kettendomäne vom humanen Typ κ ist.
20. DNA-Konstrukt, das für eine Aminosäuresequenz kodiert, die in Folge die hypervariablen Regionen hCDR1, hCDR2 und hCDR3 gemäß den Angaben in Anspruch 6 umfaßt.
21. DNA-Konstrukt, kodierend für eine H-Kette oder ein Fragment davon, umfassend
 - a) einen ersten Teil, der für eine variable Domäne kodiert, die abwechselnd Gerüst- und hypervariablen Regionen umfaßt, wobei es sich bei den hypervariablen Regionen in Folge um hCDR1, hCDR2 und hCDR3 handelt, deren Aminosäuresequenzen in Anspruch 6 angegeben sind, wobei dieser erste Teil mit einem Codon beginnt, das für die erste Aminosäure der variablen Domäne kodiert, und mit einem Codon endet, das für die letzte Aminosäure der variablen Domäne kodiert, und
 - b) einen zweiten Teil, der für einen konstanten H-Kettenteil oder ein Fragment davon kodiert, das mit einem

21.06.99
60

26. Expressionsvektor, umfassend ein DNA-Konstrukt gemäß einem der Ansprüche 20-25 in funktioneller Assoziation mit einem geeigneten Promotor.

27. Wirtszelle, transformiert mit einem Vektor gemäß Anspruch 26.

28. Verfahren zur Herstellung eines LPS-bindenden Moleküls gemäß einem der Ansprüche 6-19, umfassend die Stufen der Züchtung der Wirtszelle von Anspruch 27 und die Isolierung des exprimierten Proteins.

29. LPS-bindendes Molekül gemäß einem der Ansprüche 6-19 zur Verwendung als Arzneimittel.

30. Arzneimittelzusammensetzung, umfassend ein LPS-bindendes Molekül gemäß einem der Ansprüche 6-19 in Verbindung mit einem pharmazeutisch verträglichen Verdünnungsmittel oder Trägerstoff.